

PCT/JP 2004/004149

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

25. 3. 2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日            2 0 0 3 年   8 月 2 2 日  
Date of Application:

出 願 番 号            特 願 2 0 0 3 - 2 9 9 3 6 2  
Application Number:  
[ST. 10/C] :            [ J P 2 0 0 3 - 2 9 9 3 6 2 ]

出 願 人            独立行政法人 科学技術振興機構  
Applicant(s):        独立行政法人物質・材料研究機構

REC'D 21 MAY 2004

WIPO

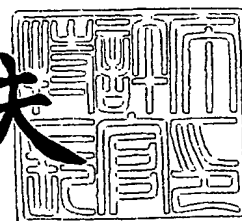
PCT

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年   4 月 3 0 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号    出証特 2 0 0 4 - 3 0 3 7 4 2 0

【書類名】 特許願  
【整理番号】 NP03309-NT  
【提出日】 平成15年 8月22日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 C04B 38/00  
A63M 35/00

【発明者】  
【住所又は居所】 茨城県つくば市千現一丁目2番1号 独立行政法人物質・材料研究機構内  
【氏名】 田中 順三

【発明者】  
【住所又は居所】 茨城県つくば市千現一丁目2番1号 独立行政法人物質・材料研究機構内  
【氏名】 生駒 俊之

【発明者】  
【住所又は居所】 茨城県つくば市千現一丁目2番1号 独立行政法人物質・材料研究機構内  
【氏名】 田口 哲志

【特許出願人】  
【識別番号】 396020800  
【氏名又は名称】 科学技術振興事業団

【特許出願人】  
【識別番号】 301023238  
【氏名又は名称】 独立行政法人物質・材料研究機構

【代理人】  
【識別番号】 100093230  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 西澤 利夫  
【電話番号】 03-5454-7191

【先の出願に基づく優先権主張】  
【出願番号】 特願2002-241976  
【出願日】 平成14年 8月22日

【手数料の表示】  
【予納台帳番号】 009911  
【納付金額】 12,600円

【その他】 国等以外の全ての者の持分の割合 60/100

【提出物件の目録】  
【物件名】 特許請求の範囲 1  
【物件名】 明細書 1  
【物件名】 要約書 1  
【物件名】 図面 1  
【包括委任状番号】 0013341

**【書類名】 特許請求の範囲****【請求項 1】**

リン酸カルシウムに金属イオンが 0.0001~10wt% の範囲で置換または表面担持されている、粒径が 0.1~100  $\mu\text{m}$  の範囲のリン酸カルシウム多孔質球形粒子。

**【請求項 2】**

BET 法（比表面積測定法）による比表面積・細孔分布測定による気孔率が 20% 以上で比表面積が 20  $\text{m}^2/\text{g}$  以上であることを特徴とする請求項 1 のリン酸カルシウム多孔質球形粒子。

**【請求項 3】**

リン酸カルシウムの微結晶からスプレードライ等により形成された多孔質粒子であることを特徴とする請求項 1 または 2 のリン酸カルシウム多孔質球形粒子。

**【請求項 4】**

置換または表面担持されている金属イオンが亜鉛、マグネシウム、鉄および銅の各イオンの 1 種または 2 種以上であることを特徴とする請求項 1 または 2 のリン酸カルシウム多孔質球形粒子。

**【請求項 5】**

リン酸カルシウム多孔質粒子であって、請求項 1 ないし 4 のいずれかの粒子が 100℃~800℃ の温度範囲において焼成されたものであることを特徴とするリン酸カルシウム多孔質球形粒子。

**【請求項 6】**

生体高分子もしくはポリエチレングリコール等の生体適合性高分子が被覆もしくは担持されていることを特徴とする請求項 1 ないし 5 のいずれかのリン酸カルシウム多孔質球形粒子。

**【請求項 7】**

生体高分子がグリコサミノグリカンであることを特徴とする請求項 6 のリン酸カルシウム多孔質球形粒子。

**【請求項 8】**

請求項 1 ないし 7 のいずれかのリン酸カルシウム多孔質球形粒子に、無機質多孔質材が被覆されていることを特徴とする多孔質多層球形粒子。

**【請求項 9】**

無機質多孔質材がリン酸カルシウム系材料または炭酸カルシウム系材料であることを特徴とする請求項 8 のリン酸カルシウム多孔質多層球形粒子。

**【請求項 10】**

生体高分子もしくはポリエチレングリコール等の生体適合性高分子が担持されていることを特徴とする請求項 8 または 9 のリン酸カルシウム多孔質多層球形粒子。

**【請求項 11】**

生体高分子がグリコサミノグリカンであることを特徴とする請求項 10 のリン酸カルシウム多孔質多層球形粒子。

## 【書類名】明細書

【発明の名称】金属イオンで一部置換または表面担持されたリン酸カルシウム多孔質球形粒子とリン酸カルシウム多孔質多層球形粒子

## 【技術分野】

## 【0001】

この出願の発明は、細胞増殖用足場素材、クロマトグラフィー素材等に有用なリン酸カルシウムの多孔質球形粒子と多孔質多層球形粒子に関するものである。

## 【背景技術】

## 【0002】

従来より、リン酸カルシウムをスプレイドライヤーで噴霧してリン酸カルシウムの球形粒子を製造する方法が知られている（たとえば特許文献1～3）。また、リン酸三カルシウムの一部を亜鉛で置換した焼結体や多孔質体、そのセメント材等も既に知られている。

## 【0003】

そして、実際に、リン酸カルシウムの球形粒子は歯科用セメント、クロマトグラフィー用素材等に利用されている。そして、リン酸カルシウムの粒子は生体適合材料、あるいはDDSキャリアー等の生体関連材料としてよく知られ、その利用の拡大が期待されており、特に、生体関連の物質との多層化やそれらの担持による機能性の向上や複合化が期待されているものである。

【特許文献1】特開昭62-230607号公報

【特許文献2】特開平1-152580号公報

【特許文献3】特開平4-175213号公報

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0004】

しかしながら、従来では、このような機能性の向上や複合化のためにリン酸カルシウム粒子が備えるべき特性や多層化、付着担持のための要件についての検討はほとんど進展していないのが実情である。実際、たとえば、リン酸カルシウム球形粒子との高分子等の複合体を製造する方法についても、リン酸カルシウム球形粒子に多糖類やコラーゲン等の高分子材料を単に被覆するにとどまっており、被覆や複合体の構造、それらの状態等をナノオーダーで調製するための方法は知られていない。

## 【0005】

そこで、この出願の発明は、以上のとおりの従来技術の限界と問題点を解消し、粒子への多層化によって微量の化学物質でも的確に分離できるクロマトグラフィー用素材等として有用な、その構造や性質の制御された、リン酸カルシウムの新しい粒子やその焼成体、そしてそれらの複合体を提供することを課題としている。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0006】

この出願の発明は、上記の課題を解決するものとして、第1には、リン酸カルシウムに金属イオンが0.0001～10wt%の範囲で置換または表面担持されている、粒径が0.1～100 $\mu$ mの範囲のリン酸カルシウム多孔質球形粒子を提供する。第2には、BET法（比表面積測定法）による比表面積・細孔分布測定による気孔率が20%以上で比表面積が20m<sup>2</sup>/g以上であることを特徴とする上記多孔質球形粒子を提供し、第3には、リン酸カルシウムの微結晶からスプレードライ等により形成された多孔質粒子であることを特徴とする上記多孔質球形粒子を提供し、第4には、置換または表面担持されている金属イオンが亜鉛、マグネシウム、鉄および銅の各イオンの1種または2種以上である上記の多孔質球形粒子を、第5には、100℃～800℃の温度範囲で焼成されたものであることを特徴とするリン酸カルシウム多孔質球形粒子を、第6には、生体高分子もしくはポリエチレングリコール等の生体適合性高分子が被覆もしくは担持されたリン酸カルシウム多孔質球形粒子を、第7には、生体高分子がグリコサミノグリカンであるリン酸カルシウム多孔質球形粒子を提供する。そして、第8には、上記多孔質球形粒子に、さらに無

機質多孔性粒子が被覆もしくは担持されている多孔質多層球形粒子を提供し、第9には、無機質多孔質材がリン酸カルシウム系材料または炭酸カルシウム系無機材料である上記多孔質多層球形粒子を、第10には、表面または内部に生体高分子もしくはポリエチレングリコール等の生体適合性高分子が担持されている多孔質多層球形粒子を、第11には、生体高分子がグリコサミノグリカンであることを特徴とするリン酸カルシウム多孔質多層球形粒子を提供する。

【発明の効果】

【0007】

以上詳しく説明したとおり、この出願の発明によって、生体適合材料としてのリン酸カルシウムの特徴を生かしつつ、さらに生体高分子や無機多孔材による粒子の多層化やそれらの担持によって、微量の化学物質でも的確に分離できるクロマトグラフィー用素材等として有用な、その構造や性質の制御された、リン酸カルシウムの新しい機能性粒子やその焼成体、そしてそれらの複合体が提供される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

この出願の発明は上記のとおりの特徴をもつものであるが、以下にその実施の形態について説明する。

【0009】

まず、金属イオンは多くの高分子に対して結合性が高いことはよく知られているが、この出願の発明はこのような性質を利用し、リン酸カルシウム系微結晶の構成の一部を金属イオンと置換させるか、または金属イオンを表面担持させ、これを多孔質球形粒子とすることにより、リン酸カルシウムの生体適合性を保持したまま、しかも各種高分子、特に生体高分子との結合性を向上させている。さらにこの出願の発明は、金属イオンで一部置換または表面担持したリン酸カルシウム系微結晶からの多孔質球形粒子の表面を無機質の多孔材で被覆することによって吸着性を高めてもいる。

【0010】

このように、リン酸カルシウムの表面の結合性および吸着性を高めることによって、無機材料と有機材料との複合材料として性質を持つ細胞増殖の足場用素材、空気清浄フィルター、クロマトグラフィー用等として有用な機能性素材が提供される。

【0011】

この出願の発明のリン酸カルシウム多孔質粒子は、

- A) 金属イオンで一部置換または表面担持されている
- B) 粒径が0.1～100  $\mu\text{m}$ の範囲である
- C) 多孔質球形粒子である

ことを基本的な特徴としている。

【0012】

この場合の金属イオンについては、その種類は多孔質球形粒子の用途、目的に対応して各種のものが選択されてよく、より一般的には、亜鉛(Zn)、マグネシウム(Mg)、鉄(Fe)、銅(Cu)がその代表例として示される。その他、チタン(Ti)、ジルコニウム(Zr)、アルミニウム(Al)、スズ(Sn)、銀(Ag)等々のものが考慮されてよい。

【0013】

また、リン酸カルシウムについても、周知のアパタイトをはじめとして各種であってよい。金属イオンによるリン酸カルシウムの一部置換や表面担持は、その構成原子のカルシウムの置換としてあってよく、もしくは、イオン結合やイオン性の吸着によって表面に金属イオンが担持されていてもよい。

【0014】

このような金属イオンによる一部置換や担持された粒径0.1～100  $\mu\text{m}$ の範囲のリン酸カルシウム多孔質球形粒子はこれまでに知られていないものである。

【0015】

粒径が  $0.1 \mu\text{m}$  未満もしくは  $100 \mu\text{m}$  を超える場合には、多孔質球形粒子としての製造が難しくなる。

【0016】

また、形状としては、球形と規定されているが、ひずんだ形状や楕円形等もこの球形の規定に含まれる。

【0017】

そして、この出願の発明のリン酸カルシウム多孔質球形粒子は、担体やキャリアー素材として使用するためには、BET法（比表面積測定法）による比表面積・細孔分布測定による気孔率が20%以上で比表面積が  $20 \text{ m}^2/\text{g}$  以上であることが望ましい。なお、この場合の気孔率については下記の計算式によって算出されるものである。

【0018】

気孔率 = BET総容積 / (BET総容積 + アパタイトの容積)

アパタイトの密度 =  $3.16 \text{ g/cm}^3$

→ アパタイトの容積 =  $1 / 3.16$

また、この出願の発明の上記リン酸カルシウム多孔質球形粒子については、リン酸カルシウムの微結晶よりスプレードライ法等によって形成した球形粒子が好ましいものとして示される。この場合には、たとえば、金属塩等の金属化合物の共存下にリン酸水溶液と水酸化カルシウム懸濁液との混合によって生成される微結晶懸濁液を用いてスプレードライによって球形粒子を形成することができる。

【0019】

金属イオンで一部置換したり、表面を担持したリン酸カルシウム微結晶はこのような湿式法やあるいは乾式法で合成し、次いでスプレードライ法で噴霧することにより球形微粒子とすることができる。そしてまた、得られた粒子は  $100^\circ\text{C} \sim 800^\circ\text{C}$  で焼成してもよい。

【0020】

リン酸カルシウムの微結晶の大きさは限定されているわけではないが、粒径  $1 \text{ nm} \sim 100 \text{ nm}$  程度が好ましく、物性や作業性等を考えれば  $5 \text{ nm} \sim 50 \text{ nm}$  程度の範囲が好ましい。

【0021】

金属イオンで置換したり、金属イオンを担持したリン酸カルシウム多孔質球形粒子は、その内部もしくは表面に高分子、たとえば生体高分子やポリエチレングリコール等の生体適合性高分子を被覆または担持させることができる。生体高分子は、生体組織を構成する1種または2種以上のものとして考慮され、たとえばヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸等のグリコサミノグリカンが例示される。また、多孔質粒子には、その細孔の内部や表面に無機質多孔材を担持もしくは被覆することや、さらに、この被覆体の内部や表面に上記と同様の高分子、たとえば生体高分子を担持させてもよい。

【0022】

高分子や無機質多孔材の担持、被覆は、各種の方法によって可能とされ、たとえばこれらの水溶液や懸濁液中へのリン酸カルシウム多孔質粒子の浸漬、あるいはリン酸カルシウム多孔質粒子へのスプレーや反応堆積等の手段によって実現される。

【0023】

以上の担持や被覆の量（割合）は、得られた多孔質粒子や多孔質多層粒子の利用目的、用途に応じて適宜にされてよいことは言うまでもない。

【0024】

被覆する無機多孔質材としてはリン酸カルシウム系材料や炭酸カルシウム系等が好ましい。

【0025】

そこで以下に実施例を示し、さらに詳しくこの出願の発明について説明する。もちろん以下の例によって発明が限定されることはない。

## 【実施例】

## 【0026】

## &lt;実施例1&gt;

1. 3.6 g または 13.6 g の塩化亜鉛をリン酸水溶液 (0.6 mol/l) の 1 リットルに溶解させて 2 種類の試料を作成した。この 2 種類の試料のそれぞれを 2 リットルの水酸化カルシウム懸濁液 (0.5 mol/l) に攪拌しながら 20 ml/min の滴下速度で加えた。このようにして得られた亜鉛 (Zn) イオン担持アパタイト懸濁液を 180 °C に保持した 2 流体ノズルを用いたスプレイドライヤーで噴霧して球形粒子を作製した。球形粒子の粒径は 1 ~ 10  $\mu$ m の範囲であった。添付した図面 1 は、走査型電子顕微鏡 (SEM) 像を例示したものである。

## 【0027】

さらに、10 ml の精製水に 30 mg のコンドロイチン硫酸 (ChS) を分散させたものを上記球形粒子 500 mg に添加して、精製水で洗浄しながら吸引ろ過した後、凍結乾燥した。

## 【0028】

また、比較のために塩化亜鉛を溶解させない以外は全て同じ条件で製造したアパタイト球形粒子を同じ条件で処理したものを凍結乾燥した。

## 【0029】

このようにして作成した 3 種類の球形粒子を赤外線スペクトル (IR)、熱分析 (TGA-DTG)、走査型電子顕微鏡観察 (SEM)、エネルギー分散型 X 線 (EDX) で分析した。IR 測定から、亜鉛イオン含有アパタイトでは ChS の官能基である SO<sub>3</sub> が観測された。しかし、亜鉛非含有アパタイトでは SO<sub>3</sub> が観測されなかった。熱分析の結果、亜鉛含有アパタイトでは ChS に特有の発熱が 300 °C 付近に観測されたが、亜鉛非含有アパタイトでは発熱が観測されなかった。EDX 分析でも亜鉛含有アパタイトは硫黄に特有なスペクトルを示したが、亜鉛非含有アパタイトでは観測されなかった。なお、亜鉛の含有量に応じてコンドロイチン硫酸 (ChS) 含有量は約 2 wt % から約 4 wt % へと増加した。

## 【0030】

## &lt;実施例2&gt;

実施例 1 において製造した球形粒子を用いて、コンドロイチン硫酸 (ChS) に代えて、10 ml の精製水中に 30 ml のヒアルロン酸 (HyA) を分散させ、精製水で洗浄を行ないながら吸引ろ過した後、凍結乾燥を行なった。熱分析の結果、亜鉛含有アパタイトを用いた場合はヒアルロン酸 (HyA) に特異的な発熱が 300 °C 付近に観測された。ヒアルロン酸 (HyA) 含有量はコンドロイチン硫酸 (ChS) を用いた場合とほぼ同量であった。

## 【0031】

## &lt;実施例3&gt;

実施例 1 (13.6 g : 塩化亜鉛) において製造したアパタイト球形粒子の薄片化をおこない、その内部構造を透過型電子顕微鏡で観察した。図 2 はその観察像を例示したものである。得られた球形粒子は、内部が空洞な多孔質体であることが確認された。

## 【0032】

## &lt;実施例4&gt;

実施例 1 (13.6 g : 塩化亜鉛) において製造したアパタイト粒子を 1 mol/l リットルの塩化カルシウム溶液に浸漬し、遠心分離後、さらに 1 mol/l リットルの NaHCO<sub>3</sub> 溶液に浸漬した。得られた複合体の X 線回折を測定した結果、炭酸カルシウムが検出された。さらに熱分析により、その重量変化を調べたところ、アパタイトに対して 12 wt % の炭酸カルシウムが含有していることが明らかとなった。また、SEM 観察の結果、アパタイト表面には炭酸カルシウムの結晶は観察されなかったことから、炭酸カルシウムはアパタイト球形粒子内部に存在していることが確認された。

## 【0033】

## &lt;実施例 5&gt;

実施例 1 (13.6 g:塩化亜鉛)において製造したアパタイト球形粒子を各温度にて焼成し、BET法(比表面測定法)による窒素ガスを用いた比表面積・細孔分布測定を行った。焼成温度に従い、比表面積・BET総容量は小さくなり、たとえば、180℃における焼成では、比表面積 $88\text{ m}^2/\text{g}$ 、BET総容量 $0.44\text{ ml/g}$ 、気孔率58% ; 600℃では、比表面積 $56\text{ m}^2/\text{g}$ 、BET総容量 $0.24\text{ ml/g}$ 、気孔率43% ; 800℃では、比表面積 $45\text{ m}^2/\text{g}$ 、BET総容量 $0.13\text{ ml/g}$ 、気孔率29%であったものが、1200℃で焼成した試料では細孔は殆ど検出できなかった。また細孔分布は180℃で焼成した場合は、BET法により60 nmに最大の分布を示した。この関係を示したグラフが図3である。

## 【0034】

なお、上記の焼成温度のいずれの焼成においても、粒子の凝集は実質的に生起していないことが確認されている。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0035】

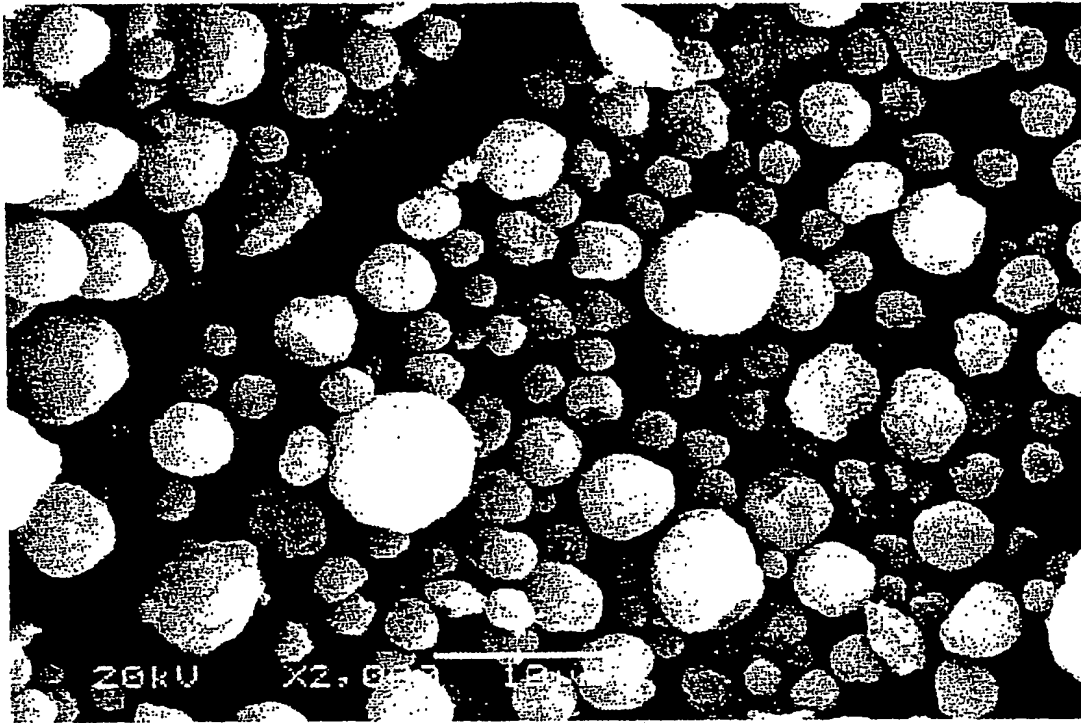
【図1】この発明の方法で製造した多孔質球形粒子の電子顕微鏡写真である。

【図2】実施例3における透過型電子顕微鏡像を例示したものである。

【図3】180℃で焼成した時のBET法で測定した細孔分布図である。

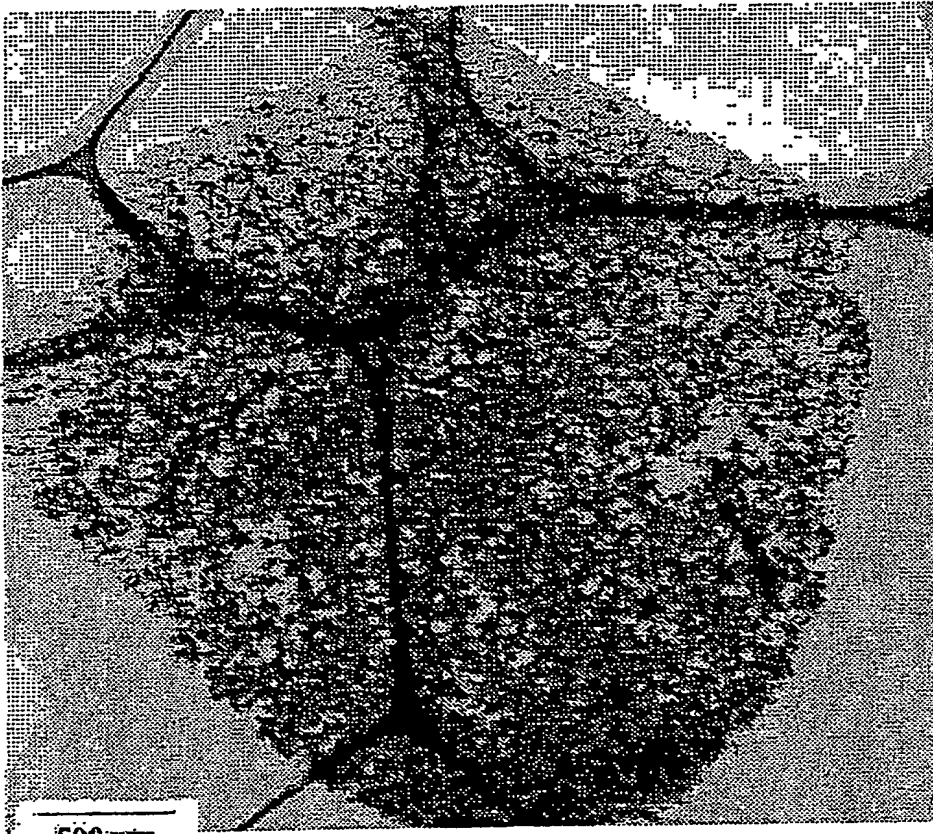


【書類名】図面  
【図1】

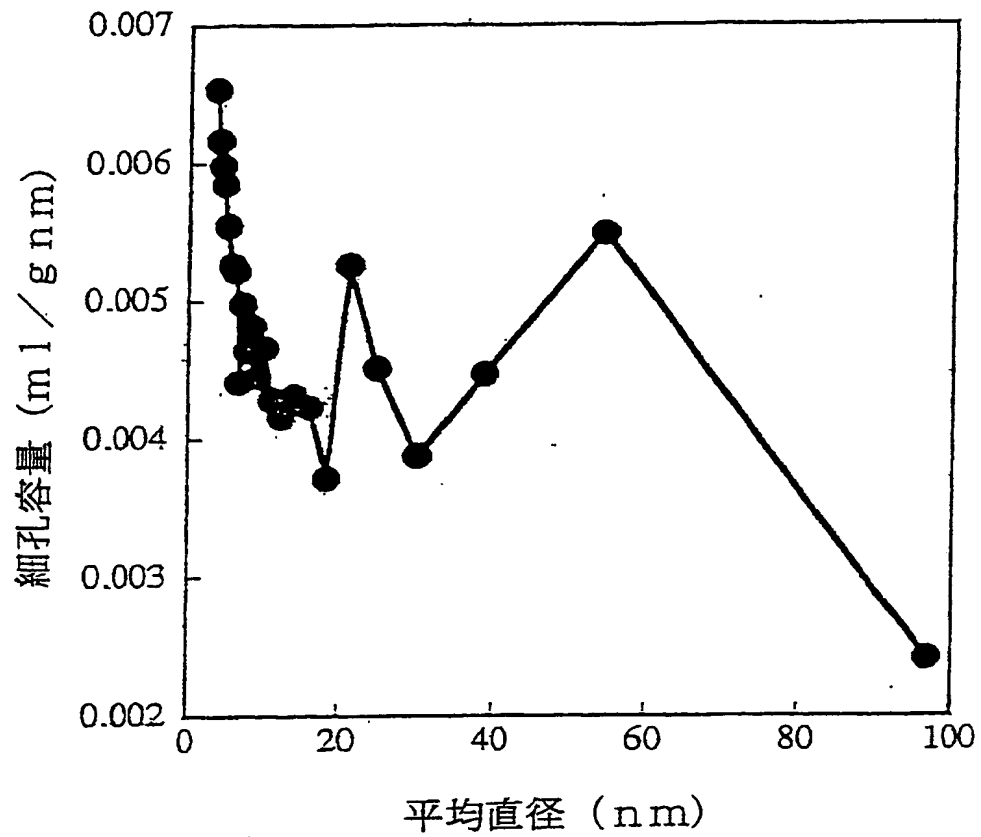


BEST AVAILABLE COPY

【図 2】



【図 3】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 微量で正確な量の化学物質を分離できるクロマトグラフィー用素材等として有用な、新しい機能性粒子を提供する。

【解決手段】 金属イオンを担持もしくは置換したリン酸カルシウムの粒径 0.1 ~ 10  $\mu\text{m}$  の多孔質球形粒子とする。

【選択図】 図 1

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-299362
受付番号	50301390352
書類名	特許願
担当官	鈴木 夏生 6890
作成日	平成 15 年 9 月 10 日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【特許出願人】

【識別番号】	396020800
【住所又は居所】	埼玉県川口市本町 4 丁目 1 番 8 号
【氏名又は名称】	科学技術振興事業団

## 【特許出願人】

【識別番号】	301023238
【住所又は居所】	茨城県つくば市千現一丁目 2 番 1 号
【氏名又は名称】	独立行政法人物質・材料研究機構

## 【代理人】

【識別番号】	100093230
【住所又は居所】	東京都渋谷区宇田川町 37-10 麻仁ビル 6 階 西澤国際特許事務所
【氏名又は名称】	西澤 利夫

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-299362
受付番号	50301390352
書類名	特許願
担当官	鈴木 夏生 6890
作成日	平成 16 年 1 月 30 日

## &lt; 認定情報・付加情報 &gt;

## 【特許出願人】

【識別番号】	396020800
【住所又は居所】	埼玉県川口市本町 4 丁目 1 番 8 号
【氏名又は名称】	科学技術振興事業団

## 【特許出願人】

【識別番号】	301023238
【住所又は居所】	茨城県つくば市千現一丁目 2 番 1 号
【氏名又は名称】	独立行政法人物質・材料研究機構

## 【代理人】

【識別番号】	100093230
【住所又は居所】	東京都港区南青山 6 丁目 1 1 番 1 号 スリーエフ 南青山ビルディング 7 F 西澤国際特許事務所
【氏名又は名称】	西澤 利夫

【書類名】 出願人名義変更届 (一般承継)  
【提出日】 平成15年10月31日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【事件の表示】  
【出願番号】 特願2003-299362  
【承継人】  
【識別番号】 503360115  
【住所又は居所】 埼玉県川口市本町四丁目1番8号  
【氏名又は名称】 独立行政法人科学技術振興機構  
【代表者】 沖村 憲樹  
【連絡先】 〒102-8666 東京都千代田区四番町5-3 独立行政法人科学技術振興機構 知的財産戦略室 佐々木吉正 TEL 03-5214-8486 FAX 03-5214-8417  
【提出物件の目録】  
【物件名】 権利の承継を証明する書面 1  
【援用の表示】 平成15年10月31日付提出の特第許3469156号にかかる一般承継による移転登録申請書に添付のものを援用する。  
【物件名】 登記簿謄本 1  
【援用の表示】 平成15年10月31日付提出の特第許3469156号にかかる一般承継による移転登録申請書に添付のものを援用する。

特願 2003-299362

出願人履歴情報

識別番号

[396020800]

1. 変更年月日

1998年 2月24日

[変更理由]

名称変更

住 所

埼玉県川口市本町4丁目1番8号

氏 名

科学技術振興事業団



特願 2 0 0 3 - 2 9 9 3 6 2

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 3 0 1 0 2 3 2 3 8 ]

1. 変更年月日

2 0 0 1 年 4 月 2 日

[変更理由]

新規登録

住 所

茨城県つくば市千現一丁目 2 番 1 号

氏 名

独立行政法人物質・材料研究機構

特願 2003-299362

出願人履歴情報

識別番号

[503360115]

1. 変更年月日

2003年10月 1日

[変更理由]

新規登録

住 所

埼玉県川口市本町4丁目1番8号

氏 名

独立行政法人 科学技術振興機構